DOI:10.11931/guihaia.gxzw201905010

# 不同产地浙贝母生物碱含量及其合成相关基因表达研究

吴秋丽[1]，嵇元烨[1]，董莉莉[1]，沈晓霞[2]，王志安[2]，王忠华[1*]

（1.浙江万里学院生物技术研究所，浙江 宁波 315100；2.浙江省中药研究所，杭州 310023）

**摘要：**为了探究浙贝母（*Fritillaria thunbergii*）药效成分积累量与生物碱合成相关基因表达水平之间的关系，该研究采用 UPLC-MS、qPCR 技术分别测定不同产地 11 个样品中总生物碱（贝母素甲和贝母素乙之和）含量和 3 个参与生物碱合成途径相关基因（*HMGR*、*FPS* 和 *DXR*）的表达量，同时运用生物统计学方法分析成熟期鳞茎生物碱含量与各基因表达量之间的相关性。结果表明：不同产地浙贝母成熟期鳞茎总生物碱含量存在显著差异（$P<0.05$），为 0.2105%～0.4612%。*HMGR* 和 *FPS* 基因在盛花期组织表达、盛花期至成熟期鳞茎表达变化趋势同生物碱含量变化趋势基本一致。*DXR* 基因在成熟期鳞茎中表达量最高，盛花期组织表达、盛花期至成熟期鳞茎表达变化趋势同生物碱含量变化趋势大体不一致。*HMGR*、*FPS* 基因表达量分别与贝母素甲、贝母素乙和总生物碱含量呈显著或极显著正相关性（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），以 *FPS* 基因表达量与生物碱含量相关系数为最高，相关系数分别为 0.672，0.631，0.664，*DXR* 基因与生物碱含量呈低度相关性。由此可以推断，生物碱的积累受 MVA 途径中 *HMGR*、*FPS* 基因协同调控或者修饰作用明显，受 MEP 途径中 *DXR* 基因调控作用不明显。

**关键词：**浙贝母，生物碱含量，生物碱合成相关基因，基因表达，相关性

中图分类号：　　　　文献标识码：A

# Alkaloid content and synthesis related gene expression of *Fritillaria thunbergii* in different producing areas

WU Qiuli[1], JI Yuanye[1], DONG Lili[1], SHEN Xiaoxia[2], Wang Zhian[2], Wang Zhonghua[1*]

（1. *Institute of Biotechnology Zhejiang Wanli University*, Ningbo 315100, Zhejiang, China; 2. *Zhejiang Institute of Traditional Chinese Medicine*, Hangzhou 310023, China）

**Abstract:** In order to explore the relationship between the accumulation of medicinal components and the expression level of alkaloid synthesis related genes in *Fritillaria thunbergii*, ultra high performance liquid chromatography mass spectrometry（UPLC-MS）and real-time quantitative PCR（qPCR）techniques were used to determine the total alkaloids (the sum of peimine and peiminine) and the expression level of three genes involved in alkaloid synthesis pathway (*HMGR*, *FPS* and *DXR*) in 11 samples from different producing areas. Meanwhile, biostatistics was used to analyze the correlation between the alkaloid content of mature bulbs and the expression of each gene. The results showed that there were significant differences in total alkaloid content of bulbs at maturity stage ($P < 0.05$), ranging from 0.2105% to 0.4612%. The variation trend of the expression of *HMG*R and *FPS* genes in the tissue of flowering stage and the bulb from flowering stage to

---

**基金项目：**浙江省中药材育种专项（2016C02058）；宁波市公益农业项目（2019C10011）[Supported by Specialized Breeding of Traditional Chinese Medicine in Zhejiang Province（2016C02058）; Ningbo Public Welfare Agriculture Program（2019C10011）]。

**作者简介：**吴秋丽（1994-），女，浙江松阳人，硕士研究生，研究方向为浙贝母生理生化与分子生物学，（E-mail）674977850@qq.com。

***通信作者：**王忠华，博士后，教授，硕士生导师，研究方向为药用植物生理生化与分子生物学，（E-mail）576128448@qq.com。

maturity stage is basically consistent with the variation trend of alkaloid content. The expression of *DXR* gene was the highest in the bulb at maturity stage, and the change trend of the tissue expression at the flowering stage and the bulb expression from the flowering stage to maturity stage was generally inconsistent with the change trend of alkaloid content. The expression levels of *HMGR* and *FPS* genes were significantly or extremely significantly positively correlated with peimine, peiminine and total alkaloid content, respectively ($P$＜0.05 or $P$ < 0.01). The coefficients between *FPS* gene expression and alkaloid content were the highest, which were 0.672, 0.631, 0.664, respectively. Meanwhile, the coefficients between *DXR* gene expression and alkaloid content were low. In summary, the date indicates the accumulation of alkaloids is significantly regulated or modified by *HMGR* and *FPS* genes in the MVA pathway, but not by *DXR* genes in the MEP pathway.

**Key words:** *Fritillaria thunbergii*，alkaloid content，alkaloid synthesis related genes，gene expression，correlation

浙贝母（*Fritillaria thunbergii*）系百合科、贝母属中一种多年生草本植物，其成熟期干燥鳞茎供入药所用，性寒，具有清热润肺、解毒散结之效用。因其原产于浙江宁波象山，主产地在浙江，且在浙江省的种植面积占全国总面积高达 90%，故简称象贝，又称浙贝（何琛晔等，2018）。目前，市场上的浙贝母药材以人工栽培为主，浙江省产区主要集中在鄞州、开化等地，浙江省附近一带也有种植，包括江苏、安徽和福建等地（CUI et al.，2018）。以贝母素甲和贝母素乙为代表的甾体类生物碱是贝母属植物中特有的一类次生代谢产物，也是浙贝母中特有的药效成分。据研究表明，甾体类生物碱在祛痰镇咳、降压活血、镇痛抗溃疡、抗炎抗氧化、抗肿瘤等方面具有重要的药用价值（LEE et al.，2015；TANG et al.，2018；CHEN et al.，2018；RUAN et al.，2016；ZHA et al.，2010）。

甾体类生物碱的前体物质主要由植物萜类生物合成途径中一个重要的中间产物异戊烯焦磷酸（IPP）经一系列酶催化形成生成（LAULE et al.，2003）。IPP 为甲羟戊酸（MVA）途径和 2-C-甲基-D-赤藻糖醇-4-磷酸（MEP）途径中间体，是参与甾体骨架合成的主要途径，这条途径参与浙贝母甾体类生物碱的合成（CARDENAS et al.，2016；ZHAO et al.，2018）。在 MVA 途径中，3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶（*HMGR*）是该途径的第一限速酶，参与催化 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A（HMG-CoA）生成甲羟戊酸这一不可逆反应（KIM et al., 2014）；法尼基焦磷酸合酶（*FPS*）是 MVA 途径中的一个关键酶，其催化牦牛儿基焦磷酸（GPP）生成法尼基焦磷酸（FPP），FPP 是植物体内一个重要的中间代谢产物（DHAR et al.，2013）；1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸还原异构酶（*DXR*）是 MEP 途径中的重要限速酶。目前，国内外对浙贝母甾体类生物碱的研究多集于药效成分含量的测定、提取纯化工艺研究、药化及药理活性分析上，对甾体类生物碱的生物合成途径及合成途径中起关键作用的酶的研究报道较少。因此，浙贝母生物碱合成途径的相关功能基因的进一步开发和利用受到了严重的限制。

本研究对 11 个不同产地浙贝母盛花期茎、叶、鳞茎及成熟期鳞茎的生物碱（贝母素甲和贝母素乙）含量进行测定，分析不同产地浙贝母生物碱含量差异及 *HMGR*、*FPS* 和 *DXR* 基因表达量与生物碱积累量之间相关性，为后续完善浙贝母生物碱合成途径提供基础数据，也为揭示浙贝母药材质量差异的分子机制奠定基础。

# 1 材料与方法

## 1.1 材料

植物材料：以 11 个不同产地的浙贝 1 号（浙贝母狭叶品种）盛花期 3 个组织部位（茎、叶和鳞茎）以及成熟期鳞茎为材料，于 2018 年 3 月中旬、5 月中旬采自浙东宁波章水，浙南温州瓯海，浙西衢州开化和丽水莲都，浙北杭州淳安、临安昌化和余杭，浙中金华婺城和东阳，浙江省临近省份江苏南通和安徽六安。不同产地气象和土壤类型基本情况见表 1。将新鲜采集的一部分材料清洗干净，切片，置于烘箱中低温烘干至恒重，研磨成粉，过 65 目筛后用于生物碱含量测定；另一部分材料经 DEPC 处理水洗涤并分装，放入液氮中速冻后贮存于-80℃超低温冰箱以用于后续基因表达量的测定。

表 1 不同产地气象和土壤类型基本情况

Table 1 Basic situation of meteorological and soil types in different producing area

| 产地 Producing area | 宁波 Ningbo | 温州 Wenzhou | 衢州 Quzhou | 丽水 Lishui | 杭州 Hangzhou | 金华 Jinhua | 南通 Nantong | 六安 Luan |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 年平均日照时数 Annual average sunshine hours（h） | 1797.7 | 1704.7 | 1809.5 | 1681.3 | 1756.3 | 1886.9 | 2089.2 | 2217.5 |
| 年平均气温 Annual average temperature（℃） | 16.5 | 18.1 | 17.3 | 18.1 | 16.5 | 17.3 | 15.9 | 15.6 |
| 年降水量 Annual precipitation（mm） | 1503 | 1734.7 | 1685.5 | 1381.3 | 1435 | 1436.8 | 1173.2 | 1145 |
| 土壤类型 Soil type | 红棕壤 | 红棕壤 | 红棕壤 | 红棕壤 | 红棕壤 | 红黄壤 | 黄棕壤 | 黄棕壤 |

仪器与试剂：ACQUITY UPLC 系统（Waters，美国）；SYNAPT G2-Si 质谱仪（Waters，美国）；CFX96 荧光定量 PCR 仪（Bio-RAD，美国）；SQP 电子分析天平（Sartorius 公司，德国）。氨水和乙腈为色谱纯；标准品贝母素甲、乙购于上海源叶生物科技有限公司；PCR 引物由上海生工生物工程有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 UPLC-MS 测定不同产地浙贝母不同组织中生物碱含量

1.2.1.1 色谱及质谱条件

色谱条件：采用 ACQUITY UPLC® BEH Amide（2.1 mm×100 mm，1.7 μm）色谱柱，流动相为 0.1%氨水（A）- 0.1%乙腈（B）；梯度洗脱（0~1.0 min，30%A→30%A；1.0~5.5 min，30%A→5%A；5.5~5.8 min，5%A→30%A）；流速为 0.2 mL•min$^{-1}$；柱温为 30℃；样品进样量为 2 μL。

质谱条件：采用电喷雾正离子源（ESI$^{+}$）检测模式，贝母素甲、贝母素乙的离子质荷比（m/z）分别为 432.35 和 430.33；毛细管电压为 3.0 kV，锥孔电压为 4.0 V，离子源温度为 105℃，去溶剂化温度为 300℃，去溶剂化气流为 800 L•h$^{-1}$，锥孔气流为 50 L•h$^{-1}$。

1.2.1.2 标准曲线绘制

分别精密称取对照品贝母素甲 0.0048 g，贝母素乙 0.0050 g，加甲醇稀释至 25 mL 容量瓶中，再用甲醇稀释成贝母素甲 96、48、38.4、19.2、9.6 mg•L$^{-1}$，贝母素乙 100、50、40、20、10 mg•L$^{-1}$ 的混合对照品溶液，摇匀后过 0.22 μm 微孔过滤器，备用。按“1.2.1.1”项色谱及质谱条件对混合对照品溶液进行分析，以对照品质量浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，建立线性回归方程。

1.2.1.3 样品生物碱含量的提取及测定

生物碱提取参照 Luo 等（LUO et al.，2018）方法基础上将回流法改为摇床震荡法（条件：温度 32℃；时间：12 h；转速：120 rpm）。按“1.2.1.1”项色谱及质谱条件对 11 个产地浙贝 1 号盛花期 3 个组织部位、成熟期鳞茎生物碱（贝母素甲和贝母素乙）含量进行测定，每个样重复 3 次。

1.2.2 浙贝母总 RNA 提取及反转录

按照 Aidlab EASYspin Plus Complex Plant RNA Kit 提取浙贝母茎、叶、鳞茎的总 RNA。采用 NanoDropTM 2000 分光光度计（Thermo Fisher, USA）测定浙贝母不同组织部位总 RNA 浓度以及吸光度比值（$A_{260/280}$ 和 $A_{260/230}$），1.2%琼脂糖凝胶电泳鉴定其完整性。采用 Vazyme HiScript® II Q RT SuperMix for qPCR 试剂盒将总 RNA 逆转录合成 cDNA，于-20℃保存。

1.2.3 荧光定量 PCR

根据本课题组已克隆的浙贝母 *HMGR*、*FPS*、*DXR* 和 *β-Actin* 基因序列采用 Primer Express 3.0 软件设计并筛选出特异性、稳定性、重复性好的引物用于荧光定量表达分析，筛选后的引物见表 2（冯亚斌等，2017a；冯亚斌等，2016；冯亚斌等，2017b）。qPCR 反应体系为 20 μL，其中包括：2×ChamQ SYBR Color qPCR Master Mix 10 μL、上下游引物各 0.4 μL，模板 cDNA 0.4 μL、ddH$_2$O 8.8 μL。qPCR 反应程序：95℃预变性 30 s；95℃ 10 s，60℃ 30s，重复 40 个循环；PCR 反应之后从 60℃逐渐升温

到95℃制作溶解曲线。以看家基因*β-Actin*作为内参基因，采用$2^{-\Delta CT}$计算基因的表达量（Wu et al.，2015）。

表 2 浙贝母 *HMGR*、*FPS* 和 *DXR* 基因的实时荧光定量 PCR 引物

Table 2 Real-time fluorescence quantitative PCR primers for *HMGR*, *FPS* and *DXR* genes of *Fritillaria thunbergii*

| 基因<br>Gene | 正向引物(5'→3')<br>Forward primer | 反向引物(5'→3')<br>Reverse primer |
|---|---|---|
| *HMGR* | CAGTGGCAATGAAGACGG | GAGGCAAATCAGTGGTATGT |
| *FPS* | TTTCGCCAGACATCAGCA | GGATTTATTCAACGAGGTG |
| *DXR* | TGGATCTCGCCTATGCTGCT | CCAGCGAAGGATGAACGACC |
| *β-Actin* | CATAATCCAGAGCCACATA | TGCCAATCTACGAGGGTT |

### 1.2.4 数据分析

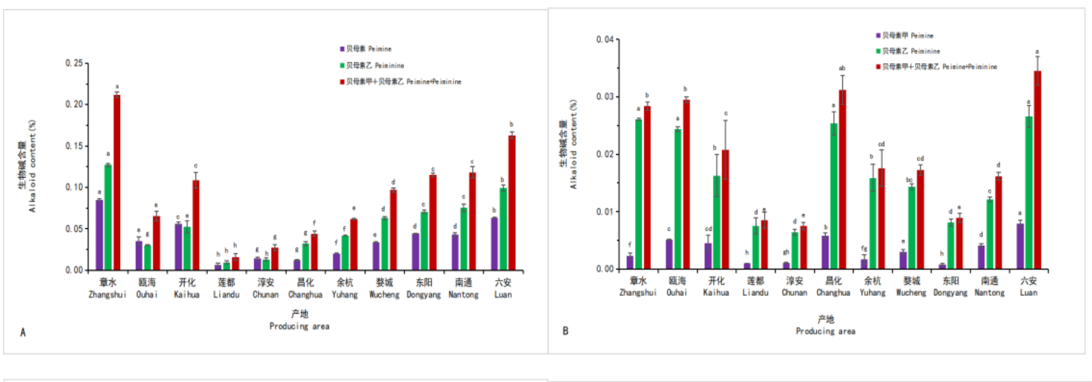
采用 SPSS statistics 21.0 软件进行统计分析，并使用 Excel 2010 绘制柱状图。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同产地对浙贝母盛花期及成熟期生物碱积累量的影响

采用 UPLC-MS 法测定 11 个产地浙贝 1 号盛花期 3 个组织（茎、叶和鳞茎）及成熟期鳞茎中生物碱（贝母素甲和贝母素乙）的含量，结果如图 1 所示。在 11 个不同产地浙贝 1 号盛花期 3 个组织部位及成熟期鳞茎中均含生物碱，不同产地浙贝 1 号盛花期同一组织部位的总生物碱含量（贝母素甲与贝母素乙含量之和）存在显著差异（$P<0.05$），茎中总生物碱含量最高的为章水，叶中总生物碱含量最高的为六安，鳞茎中总生物碱含量最高的为开化，而叶中总生物碱含量最低的为淳安，茎和鳞茎的总生物碱含量最低均为莲都；不同产地各组织部位生物碱含量存在相同的趋势，其中鳞茎中总生物碱含量最高，其次为茎，叶中总生物碱含量最低；在茎、叶和新鳞茎 3 个组织部位中，除瓯海、开化和淳安茎外，贝母素乙的含量均高于贝母素甲，且此趋势在叶中要明显高于茎和鳞茎。

在 11 个产地浙贝 1 号成熟期新鳞茎中，总生物碱含量存在显著差异（$P<0.05$），其中瓯海、六安产地浙贝母生物碱含量较高，丽水、开化、昌化、南通、婺城、章水产地总生物含量稍低，淳安、余杭、东阳产地总生物碱含量处于最低水平；其贝母素甲的含量均高于贝母素乙；值得注意的是，瓯海和莲都产地成熟期新鳞茎生物碱含量高于盛花期新鳞茎，但其它 9 个产地却呈现相反的趋势。



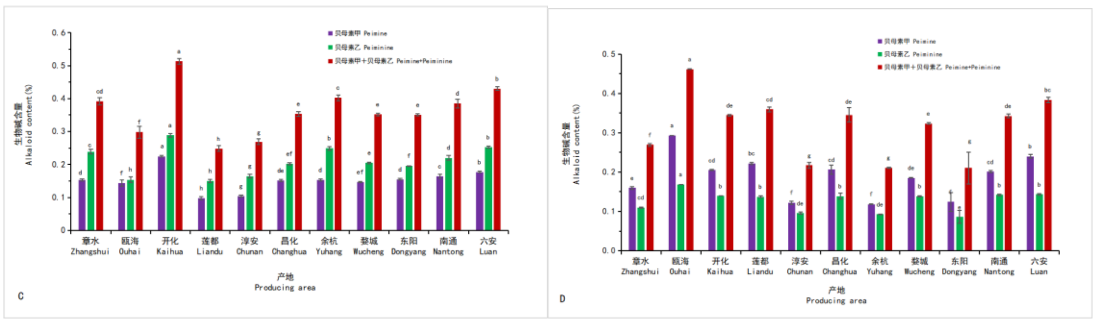




图 1 不同产地浙贝母不同组织中生物碱含量

注：**A.** 盛花期茎；**B.** 盛花期叶；**C.** 盛花期鳞茎；**D.** 成熟期鳞茎；不同字母代表差异显著（$P$<0.05）。

Fig.1 Alkaloid content in different tissues of *Fritillaria thunbergii* from different producing areas

Note: **A.** Stems at full bloom; **B**. Leaves at full bloom; **C.** Bulbs at full bloom;

**D.** Mature bulbs; Different letters indicate significant differences ($P$<0.05).

2.2 不同产地对浙贝母盛花期及成熟期生物碱合成相关基因表达的影响

以 11 个产地浙贝 1 号盛花期的茎、叶、鳞茎及成熟期鳞茎为材料，采用实时荧光定量 PCR 方法检测了 *HMGR*、*FPS* 和 *DXR* 基因在不同产地、不同组织部位、不同发育阶段的表达差异水平，基因表达结果如图 2 所示。*HMGR*、*FPS* 和 *DXR* 基因在 11 个不同产地浙贝 1 号的盛花期 3 个组织部位及成熟期鳞茎中均有表达，*HMGR* 和 *FPS* 基因表达趋势大体相同，其中以盛花期鳞茎中表达量最高，其次成熟期鳞茎，叶和茎的表达量最低；*DXR* 基因在成熟期鳞茎表达量最高，盛花期三个组织部位中的表达趋势不同于 *HMGR*、*FPS* 基因；盛花期至成熟期 *HMGR*、*FPS* 和 *DXR* 基因表达变化存在显著差异（$P$<0.05），其中，瓯海产地 *HMGR*、*FPS* 基因表达量同时上调，莲都产地 *HMGR* 基因上调，*FPS* 基因下调，其它 9 个产地 *HMGR*、*FPS* 基因表达量同时下调；除东阳产地外，其它产地 *DXR* 基因均上调。

同时，采用 Pearson 双变量相关性法（YONG et al.，2016）对 *HMGR*、*FPS* 和 *DXR* 基因表达量进行相关性分析，*HMGR* 与 *FPS* 基因呈显著正相关性（$P$<0.05），*DXR* 分别与 *HMGR*、*FPS* 基因呈低度正相关性（$P$>0.05）。

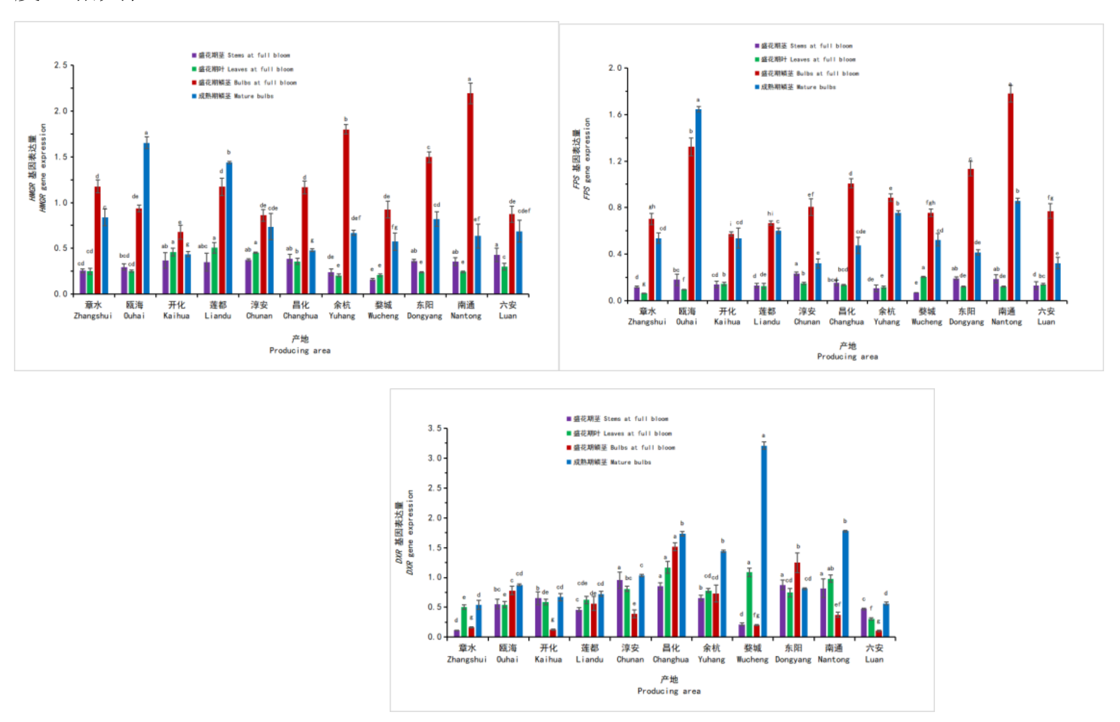



图 2 不同产地浙贝母生物碱合成相关基因表达分析

注：不同字母代表差异显著（$P$<0.05）。

Note: Different letters indicate significant differences ($P$<0.05).

Fig.2 Gene expression analysis of alkaloids related to *Fritillaria thunbergii* from different producing areas

2.3 浙贝母生物碱合成相关基因表达量与生物碱积累量的关系

为进一步研究浙贝母生物碱合成相关基因表达量与生物碱积累量之间的关系，采用 Pearson 双变量相关性法（YONG et al.，2016）对不同产地浙贝 1 号药用部位成熟期鳞茎中 *HMGR*、*FPS* 和 *DXR* 基因表达量与生物碱含量进行相关性分析（表 3）。贝母素甲、贝母素乙和总生物碱含量分别与 *HMGR*、*FPS* 基因表达量之间呈显著或极显著相关性，且 FPS 基因与生物碱含量相关性要高于 *HMGR* 基因；*DXR* 基因与贝母素甲呈低度负相关性（$P$<0.05 或 $P$<0.01），与贝母素乙、总生物碱含量呈低度正相关性

（*P*＞0.05）。

表 3 浙贝母成熟期生物碱含量与 *HMGR*、*FPS* 和 *DXR* 基因表达量相关性分析
Table 3 Analysis of correlation between alkaloid content and expression of *HMGR*, *FPS* and *DXR* genes in *Fritillaria thunbergii* at maturity stage

| 项目<br>Project | 贝母素甲<br>Peimine | 贝母素乙<br>Peiminine | 总生物碱<br>Total alkaloids |
|---|---|---|---|
| *HMGR* | 0.490* | 0.417* | 0.438* |
| *FPS* | 0.672** | 0.631** | 0.664** |
| *DXR* | -0.099 | 0.130 | 0.025 |

注：*相关性显著，P＜0.05；**相关性极显著，P＜0.01。
Note: *correlation is significant, P<0.05; ** correlation is extremely significant, P<0.01.

## 3 讨论与结论

产地环境是道地药材形成的重要外在因素，会直接影响到道地药材的生长发育及其有效成分的形成和积累（ZHANG et al., 2016）。目前，有效成分已成为道地药材品质评价的重要指标之一（谢彩香等，2016）。本研究发现：不同产地浙贝母盛花期不同组织部位生物碱含量均以鳞茎中最高，其次是茎，叶中最低，这表明浙贝母生物碱分布存在明显的组织特异性，这与虎杖、人参、肉桂等中药材药效成分分布具有明显的组织特性的结果相一致（于树宏等，2006；李雁群等，2018）。成熟期鳞茎的总生物碱含量均符合 2015 版《中国药典》规定的标准（含量≥0.080%），而道地产区鄞州章水总生物碱含量处于 11 个产地的中下水平，这与独活、丹参等中药材研究结果不一致（胡太德等，2015；李贝宁等，2011）。这一方面可能是因为过高的生物碱含量对浙贝品质具有不利影响，会使转化为生物碱的初级代谢产物含量降低，另一方面也有可能是因为浙贝母药材化学成分复杂，包括氨基酸、多糖、核苷酸、矿物质等，生物碱并不是浙贝母唯一的有效成分，并不能准确判定其品质优劣，如金银花、羌活等中药质量等级是由多种物质的含量共同决定的（刘长河等，2016；蒋舜媛等，2016）。仅瓯海、莲都产地成熟期鳞茎生物碱含量高于盛花期新鳞茎，这可能是由于浙贝母处于快速生长期（3 月中旬-5 月中旬）时，两个产地平均气温显著高于其它产地，这不利于鳞茎体积增大（PAEK et al.，2016；黎开强等，2008）。

随着分子生物学的深入发展，人们对药材品质的关注也着眼于药效成分生物合成途径及其相关酶基因的研究。李锐等（2018）研究发现，卷叶贝母中 *FPS* 基因的表达水平与总生物碱含量的变化趋势一致。本研究同样也发现 MVA 途径中的 *HMGR* 和 *FPS* 基因在盛花期组织表达、盛花期至成熟期鳞茎表达变化趋势同生物碱含量变化趋势基本一致，这表明 *HMGR*、*FPS* 基因上调或下调可能导致生物碱合成量的增加或减少。*HMGR* 和 *FPS* 基因之间呈显著正相关（P＜0.05），表明 *HMGR*、*FPS* 基因可能以协同调控或者修饰的方式来调控浙贝母生物碱的合成；此外，盛花期至成熟期鳞茎仅莲都产地 *HMGR*、*FPS* 基因表达量之间呈相反趋势，这可能与生物碱代谢通路中其它酶基因协同调控、环境因素有关（ZHAO et al.，2018）；MEP 途径中的 *DXR* 基因在成熟期鳞茎中的表达趋势与 *HMGR*、*FPS* 基因相同，但在盛花期三个组织部位中的表达趋势却不同，盛花期至成熟期鳞茎 *DXR* 基因表达趋势除东阳产地外，其它产地均上调，这与生物碱含量变化趋势相反，这可能是由于 *DXR* 基因在生物碱合成通路中所起的作用并不关键所致。在本研究所涉及的 3 个基因中，药用部位成熟期鳞茎 *FPS* 基因表达量与生物碱含量的正相关性要高于 *HMGR* 基因，而 *DXR* 基因与生物碱含量呈低度相关性，这可能是由于 MVA 途径是甾体类生物碱合成的主要途径，处于 MVA 途径的下游 *FPS* 基因对生物碱合成的调控能力比上游 *HMGR* 基因强，而 MEP 途径通过中间产物 IPP 进入 MVA 途径中，对生物碱合成的影响较小（LAULE O et al.，2003；EVA V et al.，2003；ZHAO et al.，2018）。综上所述，本研究初步确定不同环境生长的浙贝母药用成分生物碱的积累受 *HMGR*、*FPS* 基因协同调控或者修饰作用明显，受 *DXR* 基因调控作用不明显，这为今后浙贝母生物碱合成关键酶基因和质量差异分析的分子机制研究奠定基础。

**参考文献：**


CARDENAS PD, SONAWANE PD, POLLIER J, et al.，2016. GAME9 regulates the biosynthesis of steroidal alkaloids and upstream isoprenoids in the plant mevalonate pathway[J]. Nat Commun, 7(16): 10654-10669.

CHEN G, LIU J, JIANG L, et al.，2018. Peiminine protects dopaminergic neurons from inflammation-induced cell death by inhibiting the ERK1/2 and NF-κB signalling sathways[J]. Int J Mol Sci, 19(3): 821-827.

CUI MC, CHEN SJ, WANG HH, et al.，2018. Metabolic profiling investigation of *Fritillaria thunbergii Miq*. by gas chromatography-mass spectrometry[J]. J Food Drug Anal, 26(1): 337.

DHAR MK, KOUL A, KAUL S, 2013. Farnesyl pyrophosphate synthase: a key enzyme in isoprenoid biosynthetic pathway and potential molecular target for drug development[J]. New Biotechnol, 30(2): 114-123.

EVA V, COMAN D, GRUISSEM W, 2013. Network analysis of the MVA and MEP pathways for isoprenoid synthesis[J]. Annu Rev Plant Biol, 64(1): 665.

FENG YB, LI MY, WU QL, et al.，2017a. Cloning of *FPS* gene and its role in regulation of alkaloid synthesis in *Fritillaria thunbergii*[J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 48(5): 971-978. [冯亚斌，李沫宇，吴秋丽，等，2017a．浙贝母 *FPS* 基因的克隆及其在生物碱代谢中的调控作用研究[J]．中草药，48(5)：971-978.]

FENG YB, SHI XL, YU XG, et al.，2017b. Cloning and bioinformatics analysis of *Actin* gene in *Fritillaria thunbergii*[J]. Chin Tradit Pat Med, 39(1): 126-130. [冯亚斌，施鑫磊，俞信光，等，2017b．浙贝母肌动蛋白基因的克隆及生物信息学分析[J]．中成药，39(1)：126-130.]

FENG YB, YU XG, ZHUANG XC, et al.，2016. Cloning and bioinformatics analysis of aonserved fragment of *HMGR* gene in *Fritillaria thunbergii*[J]. J Nucl Agric Sci, 30(12): 2289-2294. [冯亚斌，俞信光，庄欣晨，等，2016．浙贝母 *HMGR* 基因保守区序列的克隆及生物信息学分析[J]．核农学报，30(12)：2289-2294.]

HE CY, ZHANG CC, LI SQ, et al.，2018. Research advances in quality and ecological suitability of *Fritillariae Thunbergii* bulbus chinese herbs [J]. Chinese Journal of ETMF, 24(2): 220-225. [何琛晔，张春椿，李石清，等，2018．浙贝母品质现状及中药材生态适宜性的研究进展[J]．中国实验方剂学杂志，24(2)：220-225.]

HU TD, CHEN SC, TAN J, 2015. Comparative study on the main medical component contents of angelica pubescens in famous region chongqing and other domestic areas in China[J]. Chin Pharm, 26(33): 4711-4713. [胡太德，陈绍成，谭君，2015．重庆道地药材独活与全国其他产区独活主要药效成分含量对比研究[J]．中国药房，26(33)：4711-4713.]

JIANG SY, SUN HB, SUN H, et al.，2016. Correspondence analysis between traditional commercial specifications and quantitative quality indices of Notopterygii Rhizoma et Radix[J]. Chin J Mat Med, 41(5): 793-801. [蒋舜媛，孙洪兵，孙辉，等，2016．羌活药材商品规格与质量等级的对应分析[J]．中国中药杂志，41(5)：793-801.]

KIM YJ, LEE OR, OH JY, et al.，2014. Functional analysis of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme areductase encoding genes in triterpene saponin-producing ginseng[J]. Plant Physiol, 165(1): 373-387.

LAULE O, FURHOLZ A, CHANG H S, et al.，2003. Crosstalk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*[J]. Proc Nat Acad Sci USA, 100(11): 6866-6871.

LEE B, KIM EY, KIM JH, et al.，2015. Antiallergic effects of peiminine through the regulation of inflammatory mediators in HMC-1 cells[J]. Immunopharmacol & Immunotoxicol, 37(4): 1-8.

LI BN, ZHOU XL, HUANG LQ, et al.，2011. Correlation between expression level of functional genes and tanshinones accumulation in *Salvia miltiorrhiza* from different areas[J]. Chin J Mat Med, 36(24): 3406-3409. [李贝宁，周晓丽，黄璐琦，等，2011．不同产地丹参功能基因表达水平对丹参酮类成分积累的影响[J]．中国中药杂志，36(24)：3406-3409.]

LI KQ, WU W, ZHENG YL, et al.，2008. Effect of temperature on physiologic indexes, bulb yielding and total alkaloids contents of *Fritillaria cirrhosa*[J]. Chin J Mat Med, 33 (16): 1948-1951. [黎开强，吴卫，郑有良，等，2008. 温度对川贝母生理指标、鳞茎产量及总生物碱含量的影响[J]. 中国中药杂志，33(16)：1948-1951.]

LI R, CHEN XY, ZHANG Y, et al.，2018. Cloning and expression analysis of farnesyl diphosphate synthase gene in *Fritillaria cirrhosa*[J]. Guihaia, 38(9): 1111-1116. [李锐，陈晓仪，张阳，等，2018．卷叶贝母法尼基焦磷酸合酶基因的克隆及表达分析[J]．广西植物，38(9)：1111-1116.]

LI YQ＆WU H, 2018. The research progress of the correlation between growth development and dynamic accumulation of the effective components in medicinal plants[J]. Bull Bot, 53(3): 293-304. [李雁群和吴鸿，2018．药用植物生长发育与有效成分积累关系研究进展[J]．植物学报，53(3)：293-304.]

LIU CH, WANG YY, CHEN JJ, et al.，2016. Correlation of quality and content of effective constituent in *Lonicera japonica* thunb[J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 43(11): 2352-2354. [刘长河，王艳艳，陈杰金，等，2016．银花中有效成分的含量与其质量等级相关性研究[J]．辽宁中医杂志，43(11)：2352-2354.]

LUO D, LIU Y, WANG Y, et al.，2018. Rapid identification of *Fritillariae Cirrhosae* bulbus and its adulterants by UPLC-ELSD fingerprint combined with chemometrics methods[J]. Biochem Syst & Ecol, 76: 46-51.

PAEK K Y＆MURTHY H N, 2002. High frequency of bulblet regeneration from bulb scale sections of *Fritillaria thunbergi*i[J]. Plant Cell Tiss Org, 68(3): 247-252.

RUAN X, YANG L, CUI W X, et al.，2016. Optimization of supercritical fluid extraction of total alkaloids, peimisine, peimine and peiminine from the bulb of *Fritillaria thunbergii Miq*, and evaluation of antioxidant activities of the extracts[J]. Mater, 9(7): 524.

TANG Q, WANG Y, Ma L, et al.，2018. Peiminine serves as an adriamycin chemosensitizer in gastric cancer by modulating the EGFR/FAK pathway[J]. Oncol Rep, 39(3): 1299-1305.

WU Q, MA X, ZhANG K, et al.，2015. Identification of reference genes for tissue-specific gene expression in *Panax notoginseng* using quantitative real-time PCR[J]. Biotechnol Lett, 37(1): 197-204.

XIE CX, SONG JY, HAN JP, et al.，2016. Study on genuineness evaluation and regionalization of traditional Chinese medicines[J]. World Science and Technology-Modernization of Traditional Chinese Medicine, 18(6): 950-958. [谢彩香，宋经元，韩建萍，等，2016．中药材道地性评价与区划研究[J]．世界科学技术-中医药现代化，18(6)：950-958.]

YONG W, CHEN H, HAN D, et al.，2016. Correlation of the A-FABP gene polymorphism and mRNA expression with intramuscular fat content in three-yellow chicken and hetian-black chicken[J]. Anim Biotechnol, 28(1): 37-43.

YU SH, CHA JP, ZHAN WH, et al.，2006. Contents comparison of resveratrol and polydatin in the wild *Polygonum cuspidatum* plant and its tissue cultures[J]. Chin J Mat Med, 31(8): 637-641. [于树宏，查建蓬，詹文红，等，2006．虎杖野生植株及组织培养物中白藜芦醇和虎杖苷含量的比较[J]．中国中药杂志，31(8)：637-641.]

ZHA X, SUN H, HAO J, et al.，2010. Efficient synthesis of solasodine, o-acetylsolasodine, and soladulcidine as anticancer steroidal alkaloids[J]. Chem Biodivers, 4(1): 25-31.

ZHANG L, CAO B, BAI C, et al.，2016. Predicting suitable cultivation regions of medicinal plants with maxent modeling and fuzzy logics: a case study of *Scutellaria baicalensis* in China[J]. Environ Earth Sci, 75(5):361.

ZHAO Q, LI R, ZHANG Y, et al.，2018. Transcriptome analysis reveals in vitro-cultured regeneration bulbs as a promising source for targeted *Fritillaria cirrhosa* steroidal alkaloid biosynthesis.[J]. Biotechnol, 8(4): 191.